(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro





(43) Internationales Veröffentlichungsdatum 4. Januar 2001 (04.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 01/01183 A1

(51) Internationale Patentklassifikation7: 21/06

PCT/EP00/06088 (21) Internationales Aktenzeichen:

G02B 21/00,

(22) Internationales Anmeldedatum:

29. Juni 2000 (29.06.2000)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität: 29. Juni 1999 (29.06.1999) 199 29 875.0

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): LASER- UND MEDIZIN-TECHNOLOGIE GGMBH BERLIN [DE/DE]; Fabeckstrasse 60-62, D-14195 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MÜLLER, Gerhard [DE/DE]; An der Rehwiese 8, D-14129 Berlin (DE). HELFMANN, Jürgen [DE/DE]; Clara-Zetkin-Strasse 22, D-14532 Berlin (DE).

(74) Anwalt: EISENFÜHR, SPEISER & PARTNER; Pacelliallee 43/45, D-14195 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): JP, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

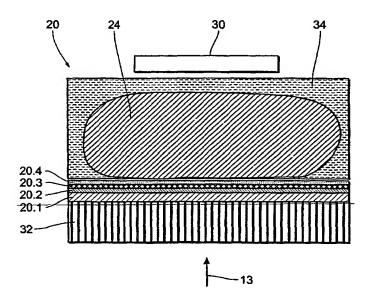
Veröffentlicht:

Mit internationalem Recherchenbericht.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: NEAR FIELD OPTICAL EXAMINATION DEVICE

(54) Bezeichnung: NAHFELDOPTISCHE UNTERSUCHUNGSVORRICHTUNG



(57) Abstract: The invention relates to a sample holder (20), especially for a biological sample (24), to be used in a device for near field optical imaging. Said sample holder comprises a support (20.1) and a converter (20.2) that is linked with said support and that contains a converter material. Said converter is designed to emit light of a small lateral source extension when irradiated with an electron beam (13). According to the invention, the sample holder is provided with an adhesive layer (20.4) that is located and configured in such a manner that it fixates the sample (24) in the near field of the converter (20.2).

WO 01/01183 A1



Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

WO 01/01183 PCT/EP00/06088

-1-

Nahfeldoptische Untersuchungsvorrichtung

Die Erfindung betrifft einen Probenhalter, insbesondere für eine biologische Probe, zur Verwendung in einer Vorrrichtung zur nahfeldoptischen Bildgebung, mit einem Träger und einem mit dem Träger verbundenen Wandler, der ein Wandlermaterial enthält und zur Abgabe von Licht kleiner lateraler Quellenausdehnung bei Bestrahlung mit einem Elektronenstrahl ausgebildet ist.

Weiterhin betrifft die Erfindung eine Vorrichtung zur nahfeldoptischen Bildgebung, mit einer zum Ausstrahlen eines Elektronenstrahls ausgebildeten Elektronenstrahlquelle und einem Probenhalter.

Schließlich betrifft die Erfindung ein Herstellungsverfahren für einen Probenhalter zur Verwendung in einer Vorrichtung zur nahfeldoptischen Bildgebung.

Zur nahfeldoptischen Mikroskopie wird eine Vielzahl unterschiedlicher Sonden und Detektionsweisen benutzt. Gemeinsam ist diesen Methoden eine Vorgehensweise, bei der die Sonde zweidimensional (x-y-Ebene) bewegt wird und an jeder x-y-Position der Abstand der Sonde zur Probe (z-Richtung) nach einem bestimmten Kriterium eingestellt werden muß. Für die Abstandseinstellung werden unterschiedliche Wechselwirkungsmechanismen genutzt. Notwendig ist der kleine Abstand zwischen der Sonde und der Probe, um im Nahfeld der Sonde die nur dort detektierbare hohe Ortsauflösung dieser Mikroskopie zu erzielen.

Es existiert eine Reihe von Patenten, die in Form von Einzelsonden eine Nahfeldlichtquelle beinhalten. Hierbei ist sowohl eine Detektion über diese Apertur (DE
19531465; EP 0112401; US 5,770,855; US 5,821,409), als auch eine Beleuchtung beschrieben (DE 19531802; DE 19714346). Die Ausgestaltung dieser Nanolichtquelle mit porösem Silizium (EP 0726480), fluoreszierenden Materialien (DE
19504662; US 5,105,305) und ausgezogenen Fasern (US 5,286,970) oder durch
Anregung von Exzitonen (US 5,362,963; US 5,546,223, US 5,675,433, US
5,789,742) ist ebenfalls beschrieben. Die Positionierung der Einzelsonden erfolgt
als kombinierte Sensoren für AFM und SNOM (DE 19631498; US 5,354,985; US
5,821,409), STM und SNOM (DE 4106548; US 5,289,004; US 5,770,955), über
Scherkraftdetektion (US 5,548,113, US 5,641,896) oder mittels der detektierten
Nahfeld-Strahlung (US 5,304,795, US 5,666,197). Auch ein Einsatz als kombinierter Aktor und Sensor ist beschrieben (US 5,770,856).

Der Nachteil dieser Vorgehensweisen gerade bei biologischen Proben besteht in der notwendigen Zeitdauer für die Abstandseinstellung, die einen Großteil der gesamten Messzeit ausmacht. Hierdurch entstehen Aufnahmezeiten im Bereich von mehreren Minuten. In dieser Zeit kann sich die lebende Probe bewegen und verändern und damit zu einer fehlerhaften Bildgebung führen. Weiterhin wird die Abstandsmesswechselwirkung durch eine übliche Probenumgebung in Form einer Nährlösung gestört, was zu falschen Bilddaten oder gar zur Beschädigung der Probe und Sonde durch Sondenkontakt führen kann. In allen bekannten Verfahren

WO 01/01183 PCT/EP00/06088
- 3 -

wird ein Laser als Lichtquelle benutzt, der nur eine spektral schmalbandige Untersuchung der Probe erlaubt.

In der US 5,633,972 ist eine gebündelte Anordnung einer Vielzahl ausgezogener Fasern mit einem Abstand der Einzelquellen von 0.5 bis 2 μ m beschrieben. Diese Anordnung hat den Nachteil, dass ein konventionelles Verfahren der Annäherung der Multifaser-Sonde an eine Probenoberfläche eingesetzt wird. Die Veränderung der Probe durch mehrere hundert ausgezogene Faserspitzen ist kritisch zu betrachten, ebenso wie die Chance, die Nahfeldbedingung über die gesamte Sondenfläche einzuhalten.

In den Schriften DE 196 01 109 A1 und WO97/25644 ist eine zweidimensionale Anordnung von Nanolichtquellen auf einem ebenen Substrat beschrieben. Die Lichtquellen werden über energiereiche Strahlung angeregt. Diese Anordnung erfordert keine mechanisch beweglichen Teile. Sie besteht aus einer feststehenden Platte mit integrierten Nahfeldlichtquellen. Die Probe wird auf der Platte aufgebracht. Hier ist jedoch durch eine Festkörperoberfläche aus Halbleitermaterial eine für biologische Proben ungeeignete Oberfläche geschaffen. Die Proben nehmen weder einen festen Abstand noch eine konstante Position über den Lichtquellen ein. Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass die Lichtquellen durch kleine Hohlräume geschaffen sind, in die bestimmte Materialien eingebracht werden. Durch biologische Proben in Nährlösung werden diese Materialien kontaminiert. Dadurch wird eine stabile Funktionsweise verhindert.

Vor diesem Hintergrund liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, einen Probenhalter sowie eine Vorrichtung zur nahfeldoptischen Untersuchung von biologischen Proben anzugeben, welche Einschränkungen der existierenden Techniken aufhebt. Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, ein Herstellungsverfahren für einen derartigen Probenhalter anzugeben.

Insbesondere ist es wünschenswert, dass die Vorrichtung zur Unt rsuchung

lebender biologischer Proben geeignet ist und eine ausreichend schnelle Bildgebung ermöglicht, so dass die Eigenbewegung der Probe oder physiologische Veränderungen beobachtet werden können. Dies erfordert Bildaufnahmezeiten im Sekundenbereich oder darunter und nicht im Minutenbereich, wie bei heutigen Techniken üblich.

Die Lösung dieser Aufgabe besteht in einem Probenhalter der eingangs genannten Art, der eine Adhäsionsschicht aufweist, die angeordnet und ausgebildet ist, die Probe im Nahfeld des Wandlers zu fixieren.

Für eine Vorrichtung zur nahfeldoptischen Bildgebung wird die Aufgabe durch einen Gegenstand mit den Merkmalen des Anspruchs 23 gelöst.

Hinsichtlich des Herstellungsverfahrens für einen Probenhalters wird die Aufgabe durch ein Verfahren mit den Merkmalen des Anspruchs 29 gelöst.

Es hat sich gezeigt, dass sich durch eine Adhäsionsschicht biologische Objekte, z.B. Zellen, stabil an einer Oberfläche fixieren lassen. Durch diese Adhäsionsschicht auf einer Unterlage, in der sich eine zweidimensionale Anordnung von Nanolichtquellen oder eine oder mehrere zweidimensional verschiebbare Nanolichtquellen befinden, gelingt es, die konstante Einhaltung des nahfeldoptischen Abstands zwischen Probe und Lichtquelle zu gewährleisten.

Mit dem Wegfallen einer Abstandsregelung, wie sie bei den Sonden-Verfahren notwendig ist, ist ein erheblicher Zeitgewinn verbunden, der in der schnellen Bildaufnahme im Bereich von Sekunden oder sogar darunter resultiert.

Ein Anformen der Probenoberfläche an die Lichtquellenmatrix wird durch eine geeignete Oberfläche der Adhäsionsschicht erreicht. Diese Adhäsionsschicht befindet sich als dünne Schicht (<30 nm) an der Oberfläche des Trägers und Wandlers. Die Adhäsionsschicht ist vorzugsweise biokompatibel. Sie wird bevorzugt aus Lipiden,

- 5 -

beispielsweise Phospholipid, oder aus Zellulose-Derivaten, beispielsweise Carboxylmetoxy-Zellulose, aufgebaut.

Bei einem Ausführungsbeispiel der Erfindung enhält die Adhäsionsschicht ein Phospholipid. An das Phospholipid kann gezielt eine funktionelle Gruppe angebaut werden, so dass eine funktionelle Oberfläche entsteht, die nur die Anlagerung bestimmter dazu passender Gruppen erlaubt bzw. die Orientierung von Molekülen erzwingt.

Eine konstante Schichtdicke ist wichtig für die Bildgebung. Die Dicke der Adhäsionsschicht ist daher bei einem bevorzugten Ausführungsbeispiel über einen Abschnitt ihrer Längs- und Quererstreckung konstant. Dieser Abschnitt umfasst zumindest den Bereich, in dem die Probe mit der Adhäsionsschicht verbunden wird. Die Adhäsionsschicht wird zur Erzielung einer konstanten Dicke als Mono- oder Bi-Layer von Molekülen aufgebracht. Dies kann durch Aufziehen der Layer geschehen oder auch durch das Sprengen von Vesikeln direkt auf der Oberfläche.

Durch Anwachsen oder Adhärieren von biologischen Objekten an dieser Schicht wird die notwendige Fixierung der Probe bei konstantem Abstand zu den Lichtquellen erzielt.

Das Wandlermaterial sendet bei Anregung mit Elektronen Licht mit vorzugsweise relativ hoher Intensität aus. Das Wandlermaterial wird bei einer Ausführungsform der Erfindung in kleinen Volumina in der Trägerschicht angeordnet. Eine Reihe von Materialien sind dazu geeignet, die sich in ihrer Ausbeute, Korngröße und spektralen Emission unterscheiden. Zum Einsatz kommen Phosphore, vorzugsweise Materialien mit exzitonischer Lichtemission wie Anthrazen oder Szintillatormaterialien (aus Lösungen auskristallisiert) wie z.B. BGO.

Der Wandler ist bei einem anderen Ausführungsbeispiel als homogene Wandlerschicht auf den Träger oder eine Trägerschicht aufgebracht. Bei der bevorzugten WO 01/01183 PCT/EP00/06088 - 6 -

Ausführungsform des Wandlers als homogene Wandlerschicht kommen vorzugweise Phosphore zum Einsatz, die als dünne Beschichtung auf den Träger aufgebracht werden.

Eine alternative Ausführungsform des Probenhalters zeichnet sich dadurch aus, dass der Träger den Wandler bildet. Dabei kann auch eine Trägerschicht gleichzeitig die Wandlerschicht bilden. Die jeweilige Position der Lichtquelle bei der Bilderzeugung wird durch die Position des Elektronenstrahls bestimmt. Dies hat den Vorteil, dass die Position der Lichtquellen durch entsprechende Steuerung einer an sich bekannten Elektronen-Ablenkeinheit frei gewählt werden kann.

In einer hervorzuhebenden Ausführungsform mit eigenständiger Schutzfähigkeit wird das Wandlermaterial durch Umwandlung des Trägermaterials oder des Materials einer auf den Träger aufgebrachten Schicht erzeugt.

In einem Ausführungsbeispiel, bei dem das Wandlermaterial in kleinen Volumina umgewandeltes Material des Trägers enthält, ist Silizium durch Ätzen in mikrooder nanoporöses Silizium überführt. Mikro- oder nanoporöses Silizium leuchtet bei Elektronenanregung sehr stark im optischen Bereich. Hierfür sind Exzitonenzerfälle verantwortlich. Die Zerfallsenergie und die Lebensdauer der Exzitonen können durch die Strukturgröße, d.h. die Porengröße des porösen Siliziums beeinflußt werden. Mit kleinerer Porengröße nimmt die der Bandabstand zwischen Valenzund Leitungsband zu (Quantum Confinement). Die Lumineszenz des Exzitonenzerfalls hat daher grundsätzlich eine um so höhere Photonenenergie, je geringer die Porengröße ist. Lumineszenz, die Bereichen mit kleineren Poren entstammt, ist daher im Vergleich zu Lumineszenz aus Bereichen mit größeren Poren zu höheren Photonenenergien verschoben. Dies wird genutzt, um Nanolichtquellen in unterschiedlichen Spektralbereichen (UV bis NIR) durch eine gezielte Einstellung unterschiedlicher Porengrößen oder Porengrößenintervallen zu erzeugen.

In einer weiteren Ausführungsform, bei der das Wandlermaterial umgewandelt ist,

weist das das Trägermaterial kleine Volumina auf, die gezielt mit geeigneten Störstellen dotiert sind, durch welche bei Elektronenstrahlanregung intensive, stark lokalisierte Lumineszenzen erzeugt werden. Soweit es sich bei dem Trägermaterial um einen Halbleiter handelt, können diese Lumineszenzen durch Einfang und Rekombination von Ladungsträgern an den Störstellen oder durch den Zerfall lokalisierter Exzitonen entstehen. Vorzugsweise ist dabei das dotierte Trägermaterial ein direkter Halbleiter wie GaAs. Bei dem dotierten Trägermaterial kann es sich auch um eine auf den Träger aufgebrachte Schicht handeln.

In einer weiteren Ausführungsform des Probenhalters mit eigenständiger Schutzfähigkeit weist das verwendete Wandlermaterial bei Elektronenbestrahlung eine Lichtemission mit einer spektralen Breite von mehr als 50 nm Wellenlänge auf. Dadurch kann die Probe in einem vergleichsweise breiten Spektralbereich untersucht werden. Durch die Erzeugung einer breiteren Verteilung von Porengrößen werden breitbandige Lichtquellen (Weißlicht) erzeugt, die in dieser Form bislang nicht für nahfeldoptische Untersuchungen zur Verfügung standen.

Eine Verbreiterung der spektralen Emission kann unter Ausnutzung an sich bekannter physikalischer Mechanismen der spektralen Verbreiterung erzielt werden. Ein solcher Mechanismus ist beispielsweise die Lebensdauerverbreiterung. Durch gezielte Einstellung der Größe des Anregungsvolumens kann beispielsweise die Bewegung der Exzitonen eingeschränkt werden, was einen schnelleren Zerfall der nach Elektronenstrahlanregung erzeugten Exzitonen bewirken kann. Die Reduzierung der Lebensdauer hat nach der Heisenberg'schen Unschärferelation eine entsprechende Verbreiterung der Energieverteilung der beim Exzitonen-Zerfall erzeugten Photonen zur Folge. Diese Möglichkeiten der Variation der spektralen Verteilung und der Nutzung einer breiten spektralen Emission werden erfindungsgemäß für die Spektralanalyse der Proben genutzt.

Dies erlaubt erstmalig die nahfeldoptische Spektroskopie an biologischen Proben. Es können mit hoher Ortsauflösung die optischen Eigenschaften wie Transmission WO 01/01183 PCT/EP00/06088

- 8 -

oder Lumineszenz der Probe in Abhängigkeit von der Photonenenergie untersucht werden. Es kann mit einer Aufnahme ein mehrdimensionales Datenfeld erfasst werden, das zur Bildgebung mit hoher örtlicher und mit spektraler Auflösung geeignet ist. Dadurch wird die Einschränkung auf eine geringe spektrale Bandbreite z.B. bei Verwendung von Laserlichtquellen überwunden und mit einer breitbandigen Lichtquelle auch spektrale Information der Probe zugänglich gemacht. Auch die zeitliche Auflösung der Bildaufnahme wird mit der erfindungsgemäßen Lösung so weit verbessert, dass zusätzlich die zeitliche Entwicklung der Eigenschaften der Probe durch mit hoher Frequenz wiederholte Bildaufnahmen erfasst werden kann.

Bei einer weiteren Ausführungsform weist der Wandler eine Anordnung von kleinen Volumina des Wandlermaterials auf. Die Volumina sind mit kleinem relativem Abstand sich in zwei Richtungen regelmäßig wiederholend angeordnet.

In Weiterführung des Erfindungsgedankens werden die Lichtquellen eingebettet in einen Träger, der aus Materialien mit Silizium oder Galliumarsenid (GaAs) hergestellt wird. Diese Materialien haben den Vorteil, dass sie einem Waferherstellungsverfahren zugänglich sind.

Die Trägerstruktur wird vorzugsweise aus Si, SiO₂ oder Si₃N₄ aufgebaut. In diesem Träger sind kleine Volumina (Querausdehnung kleiner als 100 nm) eines Wandlermaterials eingebracht oder durch Umwandlung (z. B. Ätzen) des Trägers entstanden. Diese Volumina fungieren als Lichtquellen und sind vorzugsweise in einem zweidimensionalen Raster mit kleinem Abstand (kleiner als 200 nm) angeordnet.

Der Träger ist bei einem weiteren Ausführungsbeispiel zur Stabilisierung in Abständen von 10 bis 100 μ m durch eine zusätzliche Verdickung verstärkt.

Alternativ oder ergänzend hierzu kann auf der einer Elektronenquelle zugewandten Seite des Trägers ein Elektronenfenster in Form einer planparallelen Platte mit geringer Absorption für Elektronen eingefügt werden. Diese besteht aus Beryllium - 9 -

oder Silizium. Das Fenster ist vorzugsweise so ausgebildet und angeordnet, dass es den Träger verstärkt.

Eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemäßen Probenhalters enthält eine Schutzschicht zwischen dem Wandler und der Adhäsionsschicht, die ausgebildet ist, den Wandler vor Kontamination durch die Probe zu schützen. Es hat sich gezeigt, dass durch die zusätzliche Erzeugung einer Schutzschicht zwischen Lichtquellen- und Adhäsionsschicht eine Kontamination der Lichtquellen verhindert wird. Hier kommen vorzugsweise dünne (<20 nm) Kunststoffilme zum Anwendung, vorzugsweise Polyacryl, das als Monomer aufgebracht und durch UV-Bestrahlung zu zweidimensionalen Monoschichten vernetzt wird.

In Abhängigkeit von der zu untersuchenden Probe und dem Nährmedium kann bereits die Adhäsionsschicht eine ausreichende Schutzfunktion wahrnehmen, so dass die Schutzschicht bei geeigneten Proben auch entfallen kann.

Ein weiteres Ausführungsbeispiel des erfindungsgemäßen Probenhalters weist einen Nährlösungsbehälter auf, der zur Aufnahme der Probe und einer Nährlösung ausgebildet ist. Der Nährlösungsbehälter ist zur Adhäsionsschicht hin offen und erlaubt so die Befestigung der Probe an der Adhäsionsschicht. Mit Hilfe dieses Behälters wird eine Kontamination der Vorrichtung mit Nährlösung vermieden. Vorzugsweise sind der Behälter und der Probenhalter so ausgebildet, dass der Behälter je nach Art der Probe wahlweise aufgesetzt oder entfernt werden kann.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur nahfeldoptischen Bildgebung mit einer zum Ausstrahlen eines Elektronenstrahls ausgebildeten Elektronenstrahlquelle und einem Probenhalter ermöglicht aufgrund des in ihr vorgesehenen erfindungsgemäßen Probenhalters eine besonders schnelle Bildgebung, insbesondere bei der Untersuchung biologischer Proben.

Eine bevorzugte Ausführungsform ist derart ausgebildet, dass der Wandler im

Vakuum durch den Elektronenstrahl anregbar ist.

Die dafür erforderliche Vakuumanordnung ist bei einer weiteren Ausführungsform der Erfindung derart ausgebildet, dass sich eine zu untersuchende Probe auf der der Elektronenstrahlquelle abgewandten Seite des Wandlers in Normaldruckatmosphäre befindet.

Die Vorrichtung und der Probenhalter sind bevorzugt derart ausgebildet, dass der Probenhalter entfernt werden kann, wenn kein Vakuum anliegt. Die hierfür erforderlichen Maßnahmen, insbesondere auf dem Gebiet der Vakuumtechnik, sind an sich bekannt.

Bei Proben, die dem Vakuum ausgesetzt werden können, kann auch in einer "Auflicht-Anordnung" gemessen werden. Der Wandler wird vom Elektronenstrahl beleuchtet, wobei die Probe vom Elektronenstrahl durchstrahlt wird. Das in seitliche Richtung emittierte oder gebeugte oder gestreute Licht kann zur optischen Bildgebung genutzt werden. In diesem Fall kann der Aufbau aus Fenster, Träger und Wandler dahingehend vereinfacht werden, dass die Strukturen in einer größeren Dicke ausgeführt werden und das Fenster entfällt. Der Bildkontrast besteht dann aus einer Kombination von Elektronenstrahlabsorption/-streuung und optischer Absorption.

Bei einem weiteren bevorzugten Ausführungsbeispiel der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist der Elektronenstrahl rasterförmig über die Ebene führbar, in der das Wandlermaterial angeordnet ist. Hierfür ist eine entsprechende Elektronenoptik vorgesehen, die eine Ablenkeinheit und eine fokussierende Elektronenlinse enthält. Die für die Abrasterung des Wandlers erforderliche Technik ist beispielsweise von Rasterelektronenmikroskopen oder Rasterkathodolumineszenzanordnungen bekannt.

Mit einer Sammeloptik und einem Photodetektor, der im Fernfeld der Lichtquelle

angeordnet ist, wird das optische Signal aufgenommen. Durch sequentielle Anregung der Lichtquellen an verschiedenen Positionen und Darstellung der Signalintensität in Abhängigkeit von der Lichtquellenposition wird nach und nach ein nahfeldmikroskopisches Bild erzeugt. Der Bildkontrast besteht im wesentlichen aus dem Objektkontrast im Nahfeld der Lichtquellen. Der Kontrast kann hierbei in einer vom jeweils durchstrahlen Bereich innerhalb der Probe abhängigen Lichtabsorption oder auch in einer ortsabhängig unterschiedlichen Fluoreszenz der Probe liegen.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung umfaßt in einer besonders bevorzugten Ausführungsform Spektralanalysemittel, die angeordnet und ausgebildet sind, vom Wandlermaterial oder von einer Probe emittiertes Licht zur Spektralanalyse der Probe zu nutzen. Die hierfür erforderlichen, über die Sammeloptik hinausgehenden Lichtleitungs, -abbildungs- und Spektralanalysegeräte, die insbesondere für den spektral aufgelösten Nachweis schwacher Lichtsignale ausgelegt sein müssen, sind an sich bekannt. Auch hier kann beispielsweise auf die Rasterkathodolumineszenz verwiesen werden.

Die Elektronenstrahlquelle ist zum Ausstrahlen eines Elektronenstrahls mit einer Elektronenergie zwischen 100 eV und 30 keV ausgebildet.

Weitere Ausführungsformen mit jeweils eigenständiger Schutzfähigkeit nutzen an Stelle einer Elektronenstrahlquelle andere Partikelstrahlquellen oder elektromagnetische Strahlung zur Anregung von Lichtemissionen des Wandlers, insbesondere im UV-, VUV-, Röntgen- oder Gammaspektralbereich.

Bei dem erfindungsgemäßen Herstellungsverfahren für einen Probenhalter zur Verwendung in einer Vorrrichtung zur nahfeldoptischen Bildgebung, bei dem ein Träger mit einem Wandler versehen wird und bei dem ein Schritt des Beschichtens des mit dem Wandler versehenen Trägers mit einer Adhäsionsschicht ausgeführt wird, wird die Adhäsionsschicht in Form von Mono- oder Bi-Lagen durch Aufziehen oder durch Sprengen von Vesikeln auf der Oberfläche aufgebracht. Diese Technik

erlaubt die Herstellung der Adhäsionsschicht in der für die Nahfeldmikroskopie erforderlichen, besonders geringen Dicke von weniger als hundert nm. Zugleich werden mit dieser Technik konstante Schichtdicken erzielt, die wichtig sind, um die Proben im konstanten Abstand zu den Lichtquellen zu positionieren.

Bei einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist ein Schritt des Beschichtens des Trägers mit einer Schutzschicht vorgesehen. Ein solcher Schutzfilm wird bevorzugt aus Polyacryl gefertigt als Monomer aufgebracht und durch UV-Betrahlung zu einer zweidimensionalen Monoschicht vernetzt. Die Dicke beträgt maximal 20 nm.

Weitere Merkmale und Vorteile der Erfindung werden im folgenden durch die Beschreibung einiger Ausführungsbeispiele anhand der Zeichnung verdeutlicht. Darin zeigt:

- Figur 1 ein erstes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung zur nahfeldoptischen Bildgebung,
- Figur 2 eine Abwandlung des Ausführungsbeispiels der Figur 1, mit dem Proben untersucht werden, die einem Vakuum ausgesetzt werden können,
- Figur 3 ein erstes Ausführungsbeispiel des erfindungsgemäßen Probenhalters in einer schematischen Querschnittsansicht,
- Figur 4 in gleicher Weise eine zweite Ausführungsform des erfindungsgemäßen Probenhalters,
- Figur 5 in ebenfalls stark vereinfachter Querschnittsansicht ein drittes Ausführungsbeispiel des erfindungsgemäßen Probenhalters und

- 13 -

Figur 6 eine vierte, zum Ausführungsbeispiel nach Figur 3 alternative Ausführungsform des erfindungsgemäßen Probenhalters.

Figur 1 zeigt ein erstes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung 10 zur nahfeldoptischen Bildgebung in einer stark vereinfachten Querschnittsansicht. Eine Elektronenstrahlquelle 12 erzeugt einen durch Begrenzungslinien angedeuteten Elektronenstrahl 13, der auf seinem Weg eine Ablenkeinheit 14 und eine elektronenoptische Linse 16 passiert. Die gesamte Elektronenoptik der Vorrichtung ist in einer Vakuumkammer 18 untergebracht, die durch nicht näher dargestellte Einrichtungen evakuiert und belüftet werden kann. Der Elektronenstrahl trifft mit seinem Fokus auf einen Probenhalter 20, dessen Eigenschaften weiter unten anhand der Figuren 3 bis 6 näher erläutert werden. Mit Hilfe der Ablenkeinheit 14 ist der Elektronenstrahl in zwei orthogonale Richtungen senkrecht zur Strahlrichtung unabhängig voneinander ablenkbar, so dass der Elektronenstrahlfokus rasterförmig über eine Wandlerschicht (vgl. Figuren 3 bis 6) des Probenhalters 20 geführt werden kann und in der Wandlerschicht enthaltene Nanolichtquellen 22 zum Leuchten anregt. Das von der Lichtquelle 22 in unterschiedliche Richtungen emittierte Licht wird in Figur 1 durch Pfeile angedeutet.

Während sich die Elektronenstrahlführung vollständig im Vakuum befindet, ist auf der dem Elektronenstrahl abgewandten Seite des Probenhalters eine Probe 24 unter Normaldruck angeordnet. Die Probe ist durch eine hier nicht näher dargestellte Adhäsionsschicht stabil und im Nahfeldabstand auf dem Probenhalter 20 fixiert. Das durch inelastische Elektronenstreuung von der Nanolichtquelle 22 im Wandler erzeugte Licht durchdringt die Probe 24 und wird im optischen Fernfeld durch eine hochaperturige Nachweisoptik 26 gesammelt. Der Strahlengang ist durch Begrenzungslinien 28 angedeutet. Das eingefangene Lichtsignal wird auf eine lichtempfindliche Schicht eines Photodetektors 30 abgebildet, in ein der Intensität entsprechendes elektrisches Signal umgewandelt und einer nicht dargestellten Bildgeber- und Bildverarbeitungseinheit zugeführt. In der nicht maßstabsgerechten Darstellung der Figur 1 sind die Probe 24 und der Probenhalter 20 stark vergrößert

- 14 -

dargestellt.

Figur 2 zeigt eine modifizierte Anordnung 10' des Ausführungsbeispiels der Figur 1 für Proben, die dem Vakuum ausgesetzt werden können. Gleiche Bezugszeichen kennzeichnen im Vergleich mit dem obigen Beispiel nach Figur 1 gleiche Bauteile. Die Probe 24 ist bei dem vorliegenden Ausführungsbeispiel in der Vakuumkammer 18 angeordnet und wird vom Elektronenstrahl 13 durchleuchtet. Die Probe 24 ist auf einem Probenhalter 20' befestigt. Im Unterschied zu Abbildung 1 kann in dieser Ausführungsform der Probenhalter 20' dicker ausgeführt werden. Der Probenhalter 20' unterscheidet sich ansonsten vom Probenhalter 20 in Figur 1 dadurch, dass seine Adhäsionsschicht auf der der Elektronenquelle zugewandten Seite angeordnet ist.

Durch den Elektronenstrahl 13 wird eine Nanolichtquelle 22 zur Emission von Licht angeregt, das die Probe durchstrahlt und seitlich durch ein hochaperturiges Objektiv 26' auf den Detektor 20 abgebildet wird.

Figur 3 zeigt einen erfindungsgemäßen Probenhalter 20 in einer ersten bevorzugten Ausführungsform. Der in der Zeichnung von unten kommende Elektronenstrahl 13 durchstrahlt zunächst ein Elektronenfenster 32, durchdringt anschließend eine Trägerschicht 20.1, auf der sich eine Wandlerschicht 20.1 befindet. In der Wandlerschicht 20.2 wird der Elektronenstrahl 13 durch inelastische Streuung stark abgebremst. Die auf das Wandlermaterial übertragene Energie regt dieses zur Aussendung von Licht an. Der Bereich innerhalb des Wandlers, in dem die Elektronen abgebremst werden, stellt die Nanolichtquelle 22 dar.

Durch eine Schutzschicht 20.3 wird die Wandlerschicht 20.2 vor Kontamination und Oxidation geschützt. Auf der Schutzschicht 20.3 wiederum befindet sich eine Adhäsionsschicht 20.4, die der Anlagerung der Probe 24 dient. Nur der Teil der Probe 24, der sich im Nahfeld der Lichtquelle befindet, trägt wesentlich zum optischen Signal, das im Fernfeld gemessen wird, bei.

Die Probe 24 ist im vorliegenden Ausführungsbeispiel in einem Nährlösungsbehälter 34 angeordnet, der eine durch gestrichelte Schraffur angedeutete Nährlösung enthält.

Durch Bewegen des Fokus des Elektronenstrahls 13 in der Ebene der Wandlerschicht 20.2 wird die Position der Nanolichtquelle 22 und damit gleichzeitig der Ort der Probe, an dem gemessen wird, verändert. Durch die Darstellung der Intensität des optischen Signals in Abhängigkeit vom Lichtquellenort wird das Nahfeldbild der Probe gewonnen.

Figur 4 zeigt als eine alternative Ausführungsform der Erfindung einen Probenhalter 34. Der in der Zeichnung von unten kommende Elektronenstrahl 13 durchdringt eine Trägerschicht 34.1. Im oberen Bereich der Trägerschicht 34.1 ist in kleinen Volumina 34.2 ein durch Umwandlung des Trägermaterials entstandenes Wandlermaterial 34.3 angeordnet. Hierbei handelt es sich um mikroporöses Silizium. Durch Elektronenstrahlanregung mit dem Elektronenstrahl wird das Wandlermaterial 34.3 zum intensiven Leuchten angeregt. Eine Schutzschicht 34.4 schützt das mikroporöse Silizium 34.3 vor Kontamination. Die Schutzschicht wird wiederum von einer Adhäsionsschicht 34.5 bedeckt, die der Befestigung der Probe 24 (hier nicht dargestellt) dient. Ansonsten kann der weitere Aufbau des Probenhalters identisch zur Beschreibung in Figur 3 erfolgen.

Figur 5 zeigt als weitere Ausführungsform der Erfindung eine Probenhalterung 36 mit einer Trägerstruktur 36.1. Im Unterschied zur Probenhalterung 34 nach Figur 4 sind in der Trägerstruktur 36.1 konische Löcher 36.2 ausgebildet, in denen durch Verdampfen des Lösemittels einer Lösung von Anthrazen oder Szintillatoren ein Wandlermaterial 36.3 auskristallisiert ist. Das Wandlermaterial 36.3 sendet bei Elektronenstrahlanregung intensiv Licht aus und wird wie anhand von Figur 3 beschrieben zur Bildgebung genutzt.

Figur 6 zeigt als zum Ausführungsbeispiel nach Figur 3 alternative Ausführungs-

form einen Probenhalter 38. Eine besonders dünne Trägermatrix 38.1 wird dadurch ermöglicht, dass diese durch in größerem Abstand von 10-100 μ m voneinander entfernte Tragestrukturen 38.2 verstärkt ist. Die Tragestrukturen nehmen die Kräfte der Druckdifferenz zwischen dem Vakuum auf der der Elektronenquelle 12 (vgl. Figur 1) zugewandten Seite und den Normaldruck auf der der Elektronenquelle 12 abgewandten Seite auf. Die besonders dünne Trägerschicht hat den Vorteil, dass der Elektronenstrahl 13 nur geringfügig gestreut wird. Dadurch wird die Ausdehnung der zum Leuchten angeregten Nanolichtquelle 22 (vgl. Figur 1) verringert, wodurch letztlich die laterale Auflösung des Nahfeldmikroskops erhöht wird.

<u>Patentansprüche</u>

- 1. Probenhalter (20; 20'; 34; 36; 38), insbesondere für eine biologische Probe (24), zur Verwendung in einer Vorrrichtung (10; 10') zur nahfeldoptischen Bildgebung, mit einem Träger (20.1; 34.1; 36.1; 38.1, 38.2) und einem mit dem Träger verbundenen Wandler (20.2; 34.2, 34.3; 36.3, 36.3; 38.3), der ein Wandlermaterial (34.3, 36.3) enthält und zur Abgabe von Licht kleiner lateraler Quellenausdehnung bei Bestrahlung mit einem Elektronenstrahl (13) ausgebildet ist, gekennzeichnet durch eine Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5), die angeordnet und ausgebildet ist, die Probe (24) im Nahfeld des Wandlers (20.2; 34.2, 34.3; 36.3, 36.3; 38.3) zu fixieren.
- 2. Probenhalter nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5) eine Dicke von maximal 30 nm hat.
- Probenhalter nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Dicke der Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5) über einen Abschnitt ihrer Längs- und Quererstreckung eine konstant ist.
- 4. Probenhalter nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5) ein Lipid oder ein Zellulose-Derivat enthält.
- 5. Probenhalter nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5) als Molekül-Monolage oder Molekül-Bilage ausgebildet ist.
- 6. Probenhalter nach Anspruch 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5) ein Phospholipid enthält.
- 7. Probenhalter nach Anspruch 4, 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5) Carboxylmetoxy-Zellulose

enthält.

- 8. Probenhalter nach Anspruch einem der vorstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch ein Wandlermaterial (34.3; 36.3), das bei Elektronenbestrahlung Licht mit einer spektralen Breite von mehr als 50 nm Wellenlänge emittiert.
- 9. Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Wandlermaterial (34.3; 36.3) in kleinen Volumina (34.2; 34.3) in dem Träger eingebettet ist.
- Probenhalter nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Volumina (34.2; 36.2) mit kleinem relativem Abstand sich in zwei Richtungen regelmäßig wiederholend angeordnet sind.
- 11. Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Wandlermaterial (36.3) ein Phosphor enthält.
- 12. Probenhalter nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass das Wandlermaterial (36.3) Anthrazen enthält.
- 13. Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Wandlermaterial (34.3) in kleinen Volumina (34.2) umgewandeltes Material des Trägers (34.1) enthält.
- 14. Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Wandlermaterial (34.3) mikro- oder nanoporöses Silizium enthält.
- 15. Probenhalter nach einem der Ansprüche 1 bis 8 und 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass das Wandlermaterial (20.2; 38.3) homogen auf dem Träger (20.1; 38.1) verteilt ist.

- 16. Probenhalter nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger den Wandler bildet.
- Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger (20.1; 34.1; 36.1; 38.1, 38.2) aus einem Halbleitermaterial, vorzugsweise Si, SiO₂, Si₃N₄ oder GaAs besteht.
- 18. Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Träger (38.1) in Abständen von 10 bis 100 μ m durch eine zusätzliche Verdickung (38.2) verstärkt ist.
- 19. Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch ein für Elektronen durchlässiges Fenster (32) auf der der Adhäsionsschicht (20.4) abgewandten Seite des Trägers (20.1), das vorzugsweise Beryllium oder Silizium enthält.
- 20. Probenhalter nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass das Fenster (32) ausgebildet und angeordnet ist, den Träger (20.1) zu verstärken.
- 21. Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch eine Schutzschicht (20.3; 34.4; 36.4; 38.4) zwischen dem Wandler (20.2; 34.2, 34.3; 36.3, 36.3; 38.3) und der Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5), die ausgebildet ist, den Wandler vor Kontamination durch die Probe (24) zu schützen.
- 22. Probenhalter nach einem der vorstehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch einen am Probenhalter lösbar befestigten Nährlösungsbehälter (34), der zur Aufnahme der Probe (24) und einer Nährlösung ausgebildet ist.
- 23. Vorrichtung (10; 10') zur nahfeldoptischen Bildgebung, mit einer zum Ausstrahlen eines Elektronenstrahls (13) ausgebildeten Elektronenstrahlquelle (12) und einem Probenhalter, dadurch gekennzeichnet, dass der Probenhalter (20; 20'; 34; 36; 38) entsprechend einem der Ansprüche 1 bis 21

ausgebildet ist.

- 24. Vorrichtung nach Anspruch 23, gekennzeichnet durch eine Vakuumanordnung (18), die derart ausgebildet ist, dass ein mit dem Probenhalter (20; 20'; 34; 36; 38) verbundener Wandler (20.2; 34.2, 34.3; 36.3, 36.3; 38.3) im Vakuum durch den Elektronenstrahl (13) anregbar ist.
- 25. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 oder 24, dadurch gekennzeichnet, dass der Elektronenstrahl (13) mit Hilfe einer Ablenkeinheit (14) rasterartig über die Ebene des Probenhalters (20; 20'; 34; 36; 38) führbar ist, in der ein Wandlermaterial (20.2; 34.3; 36.3; 38.3) angeordnet ist.
- 26. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass die Vakuumanordnung (18) derart ausgebildet ist, dass sich eine zu untersuchende Probe (24) auf der der Elektronenstrahlquelle (12) abgewandten Seite des Wandlers (20) in Normaldruckatmosphäre befindet.
- 27. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass die Elektronenstrahlquelle (12) zum Ausstrahlen eines Elektronenstrahls mit einer Elektronenenergie zwischen 100 eV und 30 keV ausgebildet ist.
- 28. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 23 bis 27, gekennzeichnet durch Spektralanalysemittel (30), die angeordnet und ausgebildet sind, vom Wandlermaterial (20.2; 34.3; 36.3; 38.3) oder von der Probe (24) emittiertes Licht zur Spektralanayse der Probe zu nutzen.
- 29. Herstellungsverfahren für einen Probenhalter (20; 20'; 34; 36; 38) zur Verwendung in einer Vorrrichtung (10;10') zur nahfeldoptischen Bildgebung, bei dem ein Träger (20.1; 34.1; 36.1; 38.1, 38.2) mit einem Wandler (20.2; 34.2, 34.3; 36.3, 36.3; 38.3) versehen wird und bei dem der Träger anschließend mit einer Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5) beschichtet wird, wobei die Adhäsionsschicht (20.4; 34.5; 36.5; 38.5) in Form von

Mono- oder Bi-Lagen durch Aufziehen oder durch Sprengen von Vesikeln aufgebracht wird.

30. Verfahren nach Anspruch 29, gekennzeichnet durch einen Schritt des Beschichtens des Trägers (20.1; 34.1; 36.1; 38.1, 38.2) mit einer Schutzschicht (20.3; 34.4; 36.4; 38.4), bei dem ein Polyacryl zunächst als Monomer aufgebracht wird und anschließend durch UV-Betrahlung zu einer zweidimensionalen Monoschicht vernetzt wird.

			×
			•
			•

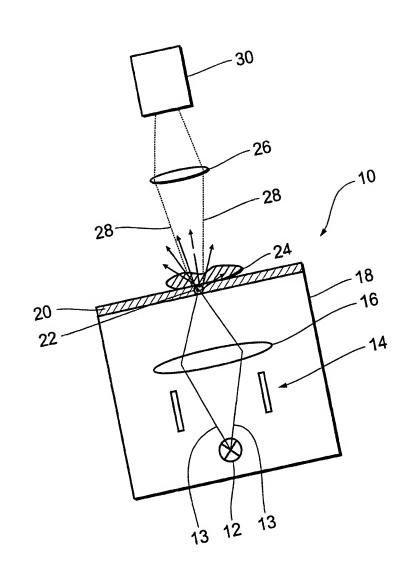


Fig. 1

		•
•		
		•

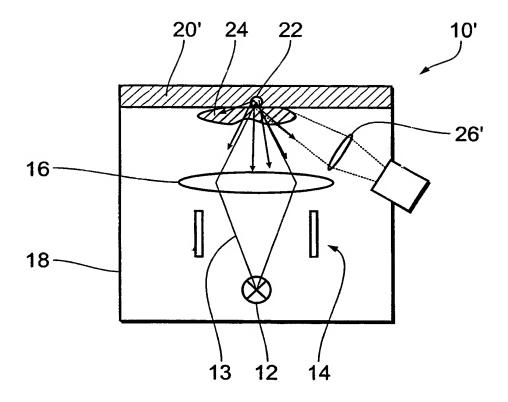


Fig. 2

			•

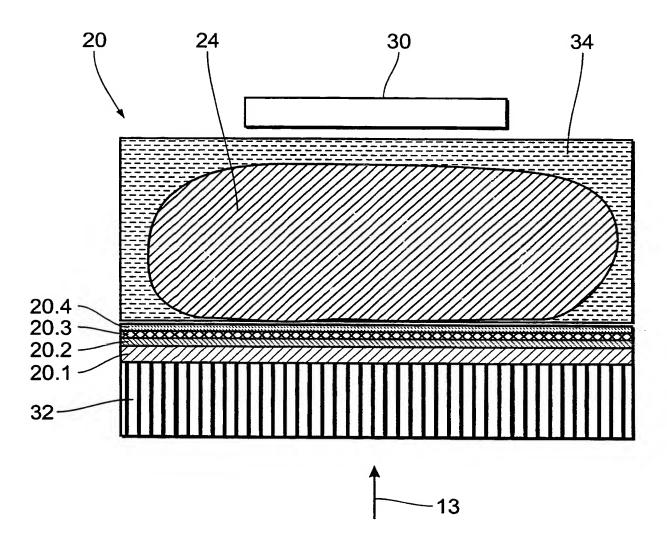


Fig. 3

		•
		•

4/6

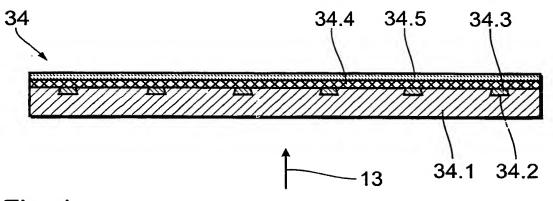


Fig. 4

			,
			٠,
•			
			•
			,

WO 01/01183 PCT/EP00/06088

5/6

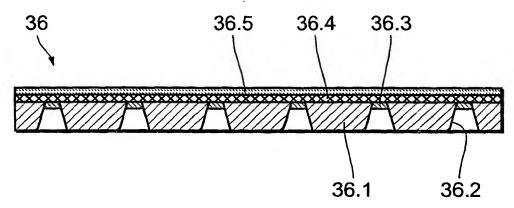


Fig. 5

		,
		٠

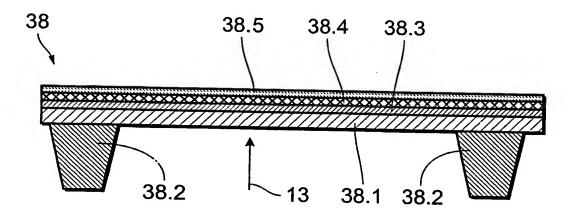


Fig. 6

		Y

INTERNATI L SEARCH REPORT

PCT/EP 00/06088

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 G02B21/00 G02B21/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) $IPC \ 7 \ G02B \ G01N$

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, INSPEC

C. DOCUMENTS	CONPIDENT	IO DE HELEVANI	
			•

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	DE 198 58 490 A (LASER UND MEDIZIN TECHNOLOGIE) 21 June 2000 (2000-06-21)	1,4, 8-14,16, 19-28
P,A	the whole document	29
А	DE 196 01 109 A (LASER UND MEDIZIN TECHNOLOGIE) 17 July 1997 (1997-07-17) cited in the application the whole document	1,29
A	GB 2 126 778 A (ERA PATENTS LTD) 28 March 1984 (1984-03-28) page 1, line 82 - line 94 page 4, line 19 - line 101; figure 3 -/	1,15,29

Y Patent family members are listed in annex.

_					-
۰	Special	categories	of cited	documents :	•

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filling date
- L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

Authorized officer

19 September 2000

Fax: (+31-70) 340-3016

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentiaan 2

NL – 2280 HV Rijswijk

Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,

27/09/2000

Ciarrocca, M

1

PCT/EP 00/06088

Category °	ation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Palorent to alain the
ategory	orrandi di document, with indication, where appropriate, or the relevant passages	Relevant to claim No.
4	POHL D W: "SCANNING NEAR-FIELD OPTICAL MICROSCOPY (SNOM)" ADVANCES IN OPTICAL AND ELECTRON MICROSCOPY, GB, LONDON, vol. 12, 1991, pages 243-312, XP000372084 page 249, last paragraph -page 250, paragraph 1	1
	US 4 041 146 A (GIAEVER IVAR) 9 August 1977 (1977-08-09) column 6, line 42 - line 45 column 7, line 5 -column 8, line 42	29
		·

1

INTERNATE AL SEARCH REPORT Information Patent family members

Int. Jepileation No PCT/EP 00/06088

Patent document cited in search report		Publication dat	Patent family member(s)	Publication date
DE 19858490	Α	21-06-2000	NONE	
DE 19601109	A	17-07-1997	WO 9725644 A	17-07-1997
GB 2126778	A	28-03-1984	NONE	
US 4041146	A	09-08-1977	DE 2618386 A FR 2309868 A GB 1533787 A JP 1292791 C JP 51133415 A JP 60018941 B	11-11-1976 26-11-1976 29-11-1978 16-12-1985 19-11-1976 13-05-1985

			1
			٠
			\$
	,		

INTERNATIONALER R

ERCHENBERICHT



KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES PK 7 G02B21/00 G02B21/06 Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK B. RECHERCHIERTE GEBIETE Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 GO2B GO1N Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, PAJ, WPI Data, INSPEC C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile Katecorie* Betr. Anspruch Nr. P,X DE 198 58 490 A (LASER UND MEDIZIN 1,4, TECHNOLOGIE) 21. Juni 2000 (2000-06-21) 8-14, 16, 19-28 P,A 29 das ganze Dokument DE 196 01 109 A (LASER UND MEDIZIN 1,29 Α TECHNOLOGIE) 17. Juli 1997 (1997-07-17) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument **GB 2 126 778 A (ERA PATENTS LTD)** 1,15,29 Α 28. März 1984 (1984-03-28) Seite 1, Zeile 82 - Zeile 94 Seite 4, Zeile 19 - Zeile 101; Abbildung 3 -/--Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu Siehe Anhang Patentfamilie X entnehmen "T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer T\u00e4tigkeit beruhend betrachtet werden "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Bernutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist Absendedatum des internationalen Recherchenberichts Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 19. September 2000 27/09/2000 Bevollmächtigter Bediensteter Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Ciarrocca, M Fax: (+31-70) 340-3016

1

	ung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	an Talla Dan Annua 6 M
(ategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommend	en Teile Betr. Anspruch Nr.
4	POHL D W: "SCANNING NEAR-FIELD OPTICAL MICROSCOPY (SNOM)" ADVANCES IN OPTICAL AND ELECTRON MICROSCOPY,GB,LONDON,Bd. 12, 1991, Seiten 243-312, XP000372084 Seite 249, letzter Absatz -Seite 250, Absatz 1	1
A	US 4 041 146 A (GIAEVER IVAR) 9. August 1977 (1977-08-09) Spalte 6, Zeile 42 - Zeile 45 Spalte 7, Zeile 5 -Spalte 8, Zeile 42	29

1

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokum		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	` Datum der Veröffentlichung
DE 19858490	Α	21-06-2000	KEINE	
DE 19601109	A	17-07-1997	W0 9725644 A	17-07-1997
GB 2126778	Α	28-03-1984	KEINE	ter step was view way hard will will make your step step copy copy ago
US 4041146	А	09-08-1977	DE 2618386 A FR 2309868 A GB 1533787 A JP 1292791 C JP 51133415 A JP 60018941 B	11-11-1976 26-11-1976 29-11-1978 16-12-1985 19-11-1976 13-05-1985

	At A I
	٠,-
	i i